Aus der chirurgischen Universitäts- und Poliklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. Ernst Kern

REAKTIONEN DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENLEBER AUF PROPHYLAKTISCH BZW. THERAPEUTISCH ANGEWANDTES ACTIHAEMYL^{R}

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Erdmuthe Hummel

aus Stuttgart

Würzburg, den 18. Dezember 1979

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0048

Aus der chirurgischen Universitäts- und Poliklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. Ernst Kern

REAKTIONEN DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENLEBER AUF PROPHYLAKTISCH BZW. THERAPEUTISCH ANGEWANDTES ACTIHAEMYL^{R}

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Erdmuthe Hummel

aus Stuttgart

Würzburg, den 18. Dezember 1979

Referent: Prof. Dr. Th. Hockerts

Koreferent: Prof. Dr. Ernst Kern

Dekan: Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Juli 1980

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

Inhaltsverzeichnis

Seite

EINLEITUNG

I. 1. Geschichte der isoliert perfundierten Rattenleber 1
2. Anwendung der isolierten Rattenleber 1
3. Prinzip der Methode 2

II. Actihaemyl^{R} 2

III. Endotoxin 5

THEMATIK 7

METHODIK 8

I. Allgemeines 8
II. Leberpräparation 8
III. Künstlicher Kreislauf 10
IV. Perfusionsmedium 11
V. Leberfunktionsprüfungen bzw. durchgeführte Messungen 11

ERGEBNISSE 13

I. Allgemeines 13

Beinflussung

II. des Leberflusses 13
III. des Galleflusses 14
IV. des pO_2 14
V. des pCO_2 15
VI. der Glucosekonzentration 15
VII. der Lactat-Pyruvatkonzentration 16
VIII. des L/P - Quotienten bei therapeutischer$_{R}$bzw. prophylaktischer Gabe von Actihaemyl^{R} 18

DISKUSSION 20

I. Allgemeines 20
1. Citratcyklus 20
2. Biologische Oxidation 20
3. Anaerobe Glykolyse und Gluconeogenese 21

Seite

II. Leberdurchfluß und Gallefluß 22
III. pO_2 22
IV. Glucose 23
V. Lactat - Pyruvat - Konzentration und - Quotient 24

ZUSAMMENFASSUNG 25

LITERATURVERZEICHNIS 26

EINLEITUNG

I. 1. Geschichte der isoliert perfundierten Rattenleber

Schon seit über 100 Jahren gibt es die Perfusion einer isolierten Leber, die an verschiedenen Tierarten durchgeführt worden ist. Die erste Leberperfusion an Ratten gelang dem englischen Physiologen TROWELL 1942 (über die Vv. hepaticae).
Die heute übliche Methode geht im wesentlichen zurück auf MILLER et al. (1951). Andere Arbeitsgruppen (BRAUER et al. 1951) entwickelten allerdings gleichzeitig ähnliche Geräte, mit denen die isolierte Leberperfusion ermöglicht wurde.
Man erkannte schon frühzeitig, daß durch eine gute Übereinstimmung der Funktion der isolierten Leber sowie der in vivo arbeitenden Organe das Verfahren ein großes Anwendungsgebiet haben würde. Eine Anerkennung durch die Biochemiker erfolgte allerdings erst 1960. Von da an aber gewann es zusehends an Bedeutung (KREBS, SCHIMASSEK, u.a.) und ist heute eine wichtige standardisierte Untersuchungsmethode.

I. 2. Anwendung der isolierten Rattenleber:

Die isoliert perfundierte Rattenleber stellt ein wichtiges Bindeglied dar zwischen in vivo- und in vitro-Versuchen und dient zur Klärung von Fragen der Physiologie, der Biochemie, der Pharmakologie und der Toxikologie.

Ihre Vorteile sind offensichtlich:

a) ständige Reproduzierbarkeit von Ergebnissen unter Standardbedingungen.
b) Unabhängigkeit von Einflußgrößen, die am Ganztier wirksam werden.
c) Abgrenzung der Leberfunktion von der Funktion des Gesamtorganismus.
d) Aufschlüsselung des Fremdstoffmetabolismus durch gezielte Hemmung oder Induktion beteiligter Enzymsysteme.
e) Gallegängigkeit von Fremdstoffen bzw. deren Metaboliten.
f) Ausmaß dieses Exkretionsweges.

I. 3. Prinzip der Methode

a) Die Leber einer erwachsenen Ratte ist isoliert;
b) sie wird unter konstantem Druck bei gleichbleibender Temperatur (37° C) von einer Nährlösung durchströmt (Krebs-Henseleit-Lösung mit Zusatz von Rinderserumalbumin; HEMS et al. 1966);
c) die künstliche Lunge garantiert die genügende Durchsetzung der Lösung mit Sauerstoff, der als Carbogen (95 % O_2, 5 % CO_2) angeboten wird;
d) die Rollerpumpe sorgt für ein konstantes Durchflußvolumen der Nährflüssigkeit;
e) zur Bestimmung der Stoffwechselleistung des isolierten Organes erfolgt die Perfusatentnahme prae- und posthepatisch.

Nach SCHIMASSEK (1963) herrscht ein genügender "funktioneller" Status der isolierten Leber, wenn
a) das Perfusionsmedium ständig das Gleiche ist,
b) der Leberdurchfluß dem physiologischen Fluß in situ entspricht (1 - 1,5 ml/min/g LG),
c) der Gallefluß $\geq$ 0,05 - 0,1 ml/15 min,
d) die Lebertemperatur 37° C beträgt,
e) der Quotient Lactat/Pyruvat = 10 (das Lactat-Pyruvat-System steht mit dem intrazellulären Coenzym NAD in enger Beziehung; es gibt Auskunft über das Redoxgleichgewicht im Zellinnern und ist ein empfindlicher Indikator für eine Zustandsänderung des Organes).

Nur bei Einhaltung dieser Standardbedingungen ist der physiologische Zustand der isoliert durchströmten Leber mit dem der Leber am intakten Tier zu vergleichen.

II. Actihaemyl^R

Actihaemyl^R (bzw. Solcoseryl^R in allen Ländern außerhalb Deutschlands) ist ein aus deproteinisiertem enzymatisch angedautem Kälberblut hergestelltes Dialysekonzentrat (Firma BYK Gulden, Konstanz). Außer anorganischen enthält es ca. 30 % organische Bestandteile (z.B. Aminosäuren, Glukose, Hormone, Vitamine).

Es ist nicht toxisch und besitzt keine antigene Aktivität. Kontraindikationen sind bisher nicht bekannt geworden. Die Substanz aktiviert den gestörten Energiestoffwechsel der Zelle durch Steigerung der Sauerstoffaufnahme und begünstigt die Glukoseeinschleusung und -verwertung:

1. die Aktivität der Serumcholinesterase steigt (BREUER et al. 1961);
2. die Phosphorylierung ist erhöht (REICHEL et al. 1965);
3. Saccharasen, Katalasen und ß-Glucosidasen werden aktiviert (SCHWABE 1966).

In der Therapie findet Actihaemyl^{R} in verschiedener Form (als Infusionslösung, Gelee, Salbe und Creme) Anwendung bei

1) peripheren Durchblutungsstörungen:

z.B. Arteriosklerose, bei der eine bessere Utilisation des verfügbaren Sauerstoffes und der Substrate gewährleistet ist (MEYTHALER et al. 1963. WISKEMANN 1967)

z.B. diabetische Angiopathie und Gangrän, hier ist die Glukosetoleranz verbessert (MONNARD 1974. DJURIC et al. 1975)

z.B. venöse periphere Gefäßleiden und ihre Folgen: die Gewebetoleranz gegen O_2-Mangel ist gesteigert; der aerobe Stoffwechsel wird aktiviert; die Energiereserven der Zellen vermehren sich (KERN und OBROWSKY 1965. SCHNELLEN 1968).

2) cerebraler Durchblutungsstörung:

z.B. Ischämie, bei der wie bei peripheren Gefäßleiden die Toleranz des Hirngewebes gegen Sauerstoffmangel erhöht ist (KIRCHHOFF et al. 1972. v. ALBERT 1964/1970/1975)

z.B. traumatische Hirnverletzungen: hier ist die Wiederbelebungszeit verlängert (FÜNFGELD 1970. LANNER 1975)

3) exogenen Gewebsschädigungen:

z.B. Wunden und Dekubitus: auch hier erhöht sich die Hypoxietoleranz und die Fibroblastenproliferation steigt (RÖLL 1963)

z.B. Verbrennungen und Verbrennungskrankheit: rasche Epithelisation; der Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Eiweißverlust hält sich in Grenzen; die Gefahr der Sekundärinfektion ist geringer (RÜGHEIMER 1971)

z.B. Strahlenschäden lassen sich durch prophylaktische Anwendung von Actihaemyl-Salbe an den zu bestrahlenden Stellen verhindern bzw. die "energiebedürftigen Regenerations- und Wundheilungsprozesse werden angeregt und unterstützt" (GAEBEL et al. 1961. HOEFER-JANKER et al. 1970. WAGENKNECHT 1976)

z.B. Hauttransplantationen: hier läßt sich eine Verbesserung der Ernährung und Revaskularisierung erzielen (STERN et al. 1970)

z.B. Kornealäsionen: "die sonst häufige und gefürchtete Symblepharonbildung bleibt bei der Behandlung mit Actihaemyl vollständig aus"; es läßt sich eine "durchsichtige Kornea mit zartem Narbengewebe" erzielen (MENNA 1964. GEYER 1971)

4) Intoxikationen:

z.B. Alkoholdelir, bei dem sich die erhöhten Ammoniak-, Amino-N- und Laktatwerte signifikant erniedrigen lassen (REIKOWSKI et al. 1975)

Auf allen diesen Gebieten zeigt sich, daß Actihaemyl^{R} die Ernährung der Zellen und Gewebe verbessert, den verminderten Zellstoffwechsel und die Energiebildung normalisiert und die reparativen Vorgänge der Gewebe beschleunigt.

III. Endotoxin

Das in den Versuchen verwendete Endotoxin wurde von Escherichia coli gewonnen. Nach UTILI und anderen Autoren bewirken solche bakteriellen Endotoxine (Lipopolysaccharide aus der Zellwand von gramnegativen Bakterien) eine Vielzahl von Veränderungen im Organismus:

1) Wirkungen auf das exkretorische System (UTILI et al.):
   Versuche, bei denen die ex vivo perfundierte Rattenleber benutzt wurde, ergaben eine dosisabhängige Abnahme des Galleflusses (nicht zwangsläufig verbunden mit einer mechanischen Drosselung des Leberdurchflusses!) und
   der Bromsulphthaleinexkretion, wobei beide nicht gekoppelt sind mit einer Konjugationshemmung.

2) Wirkungen auf die Gefäße (UTILI et al; RANGEL et al; NOLAN et O'CONNELLI):
   Sowohl bei der im Tier (Kaninchen) belassenen als auch bei der isoliert perfundierten Leber (Ratte) wurde eine sofort nach Zugabe des Endotoxins einsetzende Drosselung des Leberflusses um 16 - 22 % festgestellt. Der Mechanismus ist unbekannt, vermutet wird ein direkter Angriff am Gefäß. Diese Hemmung des venösen Rückstromes aus der Leber ist nicht abhängig von extrahepatischen Faktoren wie z.B. verminderter Auswurfleistung des Herzens oder Erniedrigung des Plasmavolumens.

3) Wirkungen auf die Leberzelle (ZIMMERMAN; HARKEN et al.):
   Unter dem Einfluß von letalen Endotoxindosen beobachteten die Autoren folgende Veränderungen:
   a) Überfüllung der Sinusoide mit Blut;

b) Schwellung von Mitochondrien und Kupfferzellen;
c) Vakuolen im Cytoplasma;
d) Erweiterung des endoplasmatischen Retikulums, der Gallengänge und des Dissé'schen Raumes;
e) Verlust der Mikrovilli in den Gallengängen;
f) Erscheinen von freiem Fibrin in der Mikrozirkulation;
g) Erniedrigung des O_2-Verbrauches, wobei es keine Rolle spielt, ob die Zellmembran intakt ist oder zerstört wurde;
h) Hemmung der ATP-ase-Aktivität;
i) Herabsetzung des zellulären pH-Wertes.

4) Wirkung auf die Freisetzung von Enzymen (ZIMMERMAN):

Erhöhte Serumenzymspiegel deuten auf eine Zellschädigung hin, wobei man aber nicht ganz sicher feststellen kann, ob diese Erhöhung auf eine direkte Wirkung des Endotoxins zurückzuführen ist oder lediglich in Begleitung des durch das Bakteriengift hervorgerufenen Schocks auftritt. Auf jeden Fall wurden bei subletalen Dosen erhöhte Serumspiegel von GOT, GPT und LDH gemessen.

5) Wirkungen auf den Leberstoffwechsel (ZIMMERMAN, FILKINS et al., ZWADYK et al.):
Nach Endotoxin-Applikation wird eine initiale Hyperglykämie beobachtet, die dadurch zustande kommt, daß sich die Glykogenspeicher der Leber entleeren. Als Ursache wurde die Freisetzung von Adrenalin angenommen. Dies konnte aber im Versuch nicht bestätigt werden. In der zweiten Phase folgt eine Hypoglykämie, weil das Endotoxin die Gluconeogenese aus Glucosevorläufern hemmt.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Gefäßveränderungen, die Unterdrückung der exkretorischen Funktionen, die Erniedrigung des O_2-Verbrauches und die anderen im Versuch festgestellten Vorgänge in der Leber zumindest teilweise auf eine direkte Endotoxinwirkung zurückzuführen sind.

THEMATIK

Zahlreiche Untersuchungen bestätigten die Leber als Hauptort schädigender Endotoxinwirkungen (UTILI et al. 1977, RANGEL et al. 1970, HARKEN et al. 1975, ZWADYK und SNYDER 1973, FILKINS und CORNELL 1974, ZIMMERMAN 1977). Dabei wurden nicht nur Veränderungen an der Leberzelle selbst beschrieben wie z.B. Schwellung von Mitochondrien und Kupfferzellen, Vakuolen im Cytoplasma oder Verlust der Mikrovilli in den Gallengängen (ZIMMERMAN 1977), sondern auch Hemmung des exkretorischen Systems (UTILI et al. 1977), ein vermutlich direkter Angriff auf das Gefäßsystem (RANGEL et al. 1970), Wirkungen auf die Enzymfreisetzung (ZIMMERMAN 1977) und Beeinflussung der Glykogenolyse bzw. der Gluconeogenese (FILKINS et al. 1974).

In der vorliegenden Arbeit wurde nun in mehreren Versuchsreihen an der isoliert perfundierten Rattenleber geprüft, ob diese Endotoxineffekte durch einen geeigneten Zellstoffwechsel-Aktivator wie Actihaemyl^{R} zu beeinflussen sind. Insbesondere wurde Wert gelegt auf die Frage, ob die Substanz prophylaktisch oder kurativ angewendet die größeren Erfolge zeigt. Zu diesem Zwecke wurde sie in einer Versuchsserie in definierten Zeitabständen vor, in einer zweiten entsprechend nach Endotoxingabe dem Perfusat zugeführt und ihre Wirkung durch Messung des pO_2, des pCO_2, des Leber- und Galleflusses, der Glucosekonzentration und des Lactat-Pyruvatquotienten im Perfusat prae- und posthepatisch beurteilt. Vorher führten wir als Vergleichsmöglichkeit Leerversuche durch, außerdem Versuchsreihen, in denen sowohl Endotoxin als auch Actihaemyl^{R} allein in verschiedenen Konzentrationen dem Perfusionsmedium beigegeben wurde.

METHODIK

I. Allgemeines

Die Versuchstiere sind weibliche Wistar-Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 260 g.
Sie werden narkotisiert mit 6 mg/kg Körpergewicht Methylurethan (25 %) intraperitioneal. Zur Herabsetzung der Blutgerinnungsfähigkeit werden 2 ml/kg Körpergewicht Heparin (5000 IE/ml) gleichzeitig intraperitoneal gespritzt.
Das verwendete Endotoxin ist von den DIFCO Laboratories in Detroit, Michigan, USA bezogen (Bacto: Lipopolysaccharide W, Escherichia coli, 026 : B 6).

II. Leberpräparation

in Anlehnung an die Methode von HEMS et al. (1966) und MILLER (1973) : s. Abb. 1

Die Bauchhöhle wird durch einen Medianschnitt von der Symphyse bis zum Sternum eröffnet. Nach Darstellung des Gallenganges wird dieser katheterisiert (8 cm lang, Ø 0,5 mm). Nach Umschlingung der A. hepatica bzw. der V. cava inferior oberhalb der Einmündung der Nierenvenen (Unterbindung nach Anschluß der Leber an den künstlichen Kreislauf) wird ein Katheter (20 cm lang, Ø 1,5 mm) in die doppelt ligierte V. portae eingebunden.
Jetzt wird der Brustkorb schnellstmöglich eröffnet, das rechte Herzohr angeschnitten und ein Katheter (15 cm lang, Ø 2 mm) durch den rechten Vorhof in die Vena cava superior bis zu den Lebervenen vorgeschoben. Die so präparierte Leber wird - im Tier belassen - an den künstlichen Kreislauf angeschlossen, wobei die Ischämiephase höchstens fünf Minuten dauern darf.

Abb. 1: Leberpräparation

III. Künstlicher Kreislauf: s. Abb. 2

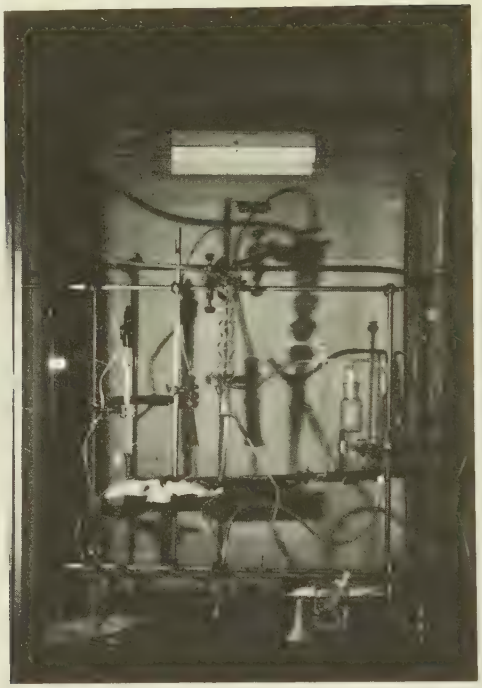


Abb. 2 Perfusionsapparat

Der Aufbau des künstlichen Kreislaufes entspricht der Apparatur von HEMS et al. (1966); die wiederum geht auf MILLER et al. (1951) zurück.

Eine Rollerpumpe pumpt das Perfusat aus einem Reservoir, in welchem es mittels Magnetrührer durchmischt wird, durch ein Maschenfilter in die künstliche Lunge. An ihrem Ende wird ein konstantes Flüssigkeitsniveau gebildet, das über den in den Lebergefäßen herrschenden hydrostatischen Druck (etwa 18 cm Wassersäule) die Flußgeschwindigkeit des Perfusates durch die Leber bestimmt. Dieses gelangt über den "Herzkatheter" wieder in das Reservoir zurück. Das Restmedium fließt über einen Heberüberlauf direkt aus dem Oxymeter ins Sammelgefäß zurück.

Die Flüssigkeitsentnahme zur Analyse erfolgt prae- und posthepatisch.
Dieser "Kreislauf" stellt ein offenes System dar (entstehende flüchtige Stoffe werden über die Lunge "abgeatmet"), weil er über die Lungenoberfläche mit der Außenwelt in Verbindung steht.

IV. Perfusionsmedium:

Das Perfusat besteht aus insgesamt 526 ml der Nährlösung nach KREBS-HENSELEIT (aus Ter 1965), die mit Carbogen (0,25 - 1 l/min) durchflutet wird. Dazu werden in den jeweiligen Versuchen die entsprechenden Mengen E.coli-Endotoxin bzw. Actihaemyl gegeben.

Nährlösung nach K.-H.:
200 ml Haemaccel (Plasma-Expander)
200 ml NaCl (0,9 %)
8 ml KCL (1,15 %)
6 ml $CaCl_2$ (0,11 n)
4 ml KH_2PO_4 (2,11 %)
4 ml $MgSO_4$ (3,82 %)
84 ml $NaHCO_3$ (1,3 %)
20 ml Glucose (5,4 %)
3 g Serumalbumin vom Rind

V. Leberfunktionsprüfungen bzw. durchgeführte Messungen:

Sofort nach dem Anschluß an den künstlichen Kreislauf befindet sich die Leber in einem unphysiologischen Zustand, hervorgerufen durch die Ischämie während der Präparation. Man nennt diesen Zustand den "alterierten, anaeroben Status".
Erst nach halbstündiger Durchströmung mit gut O_2-gesättigtem Perfusat ist der "funktionelle, aerobe Zustand" erreicht, der es gestattet, die eigentlichen Versuche zu unternehmen.

Im einzelnen wird untersucht bzw. gemessen:
1. Perfusatdurchfluß durch die Leber. Zu dessen Ermittlung wird ein Zylinder mit ml-Skala benutzt, in den jeweils eine Minute lang Flüssigkeit aus dem "Herzkatheter" gesammelt wird (Entnahme nach 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75 und 90 Minuten).

2. Gallefluß, etwa alle 15 Minuten mittels einer an das Katheterende gelegten Pipette.

3. pO_2, pCO_2 und pH des Perfusates mit dem Gas-Check-Analyser.

4. Glukosekonzentration im Perfusat prae- und posthepatisch mit der Hexokinase-Methode mit Enteiweißung (F.H.Schmidt).
   Prinzip: Glukose + ATP $\xrightarrow{HK}$ G6P + ADP
   G6P + NADP + $\xrightarrow{G6P\text{-}DH}$ Gluconat-6-P + NADPH + H +
   (Reagentien und Durchführung siehe UV-Test Gluco-Quant der Firma Boehringer Mannheim, Best. Nr. 158089).

5. Lactatkonzentration im Perfusat prae- und posthepatisch mit der Methode nach HOHORST (1962).
   Prinzip: L-Lactat + NAD + $\rightleftharpoons^{LDH}$ Pyruvat + NADH + H^+
   (Reagentien und Durchführung siehe UV-Test mit LDH der Firma Boehringer Mannheim, Best. Nr. 124842).

6. Pyruvatkonzentration im Perfusat prae- und posthepatisch mit der 1943 erstmals von KUBOWITZ und Mitarbeitern angegebenen Methode.
   Prinzip: Pyruvat + NADH + H^+ $\xrightarrow{LDH}$ L-Lactat + NAD^+
   (Reagentien und Durchführung siehe UV-Test mit LDH der Firma Boehringer Mannheim, Best. Nr. 124982).

ERGEBNISSE

I. Allgemeines

Nach Messung des pO_2 und pCO_2, der Glucose-, Lactat- und Pyruvatkonzentration im prae- und posthepatisch entnommenen Perfusat bzw. nach Bestimmung der Leberdurchströmung und des Galleflusses wird die Differenz "prae- minus posthepatisch" der verschiedenen Größen ermittelt und grafisch aufgetragen. Dabei ergibt sich folgendes:

II. Leberdurchfluß (vgl. Abb. 3!)

Der in den Vorversuchen ermittelte dosisabhängige Abfall des Leberflusses bei Endotoxingabe bzw. der Anstieg nach Zuführung von Actihaemyl^R konnte in der Hauptversuchsreihe bestätigt werden.

Bei therapeutischer Verabreichung des Actihaemyl^R 15 Minuten nach Endotoxingabe steigt der Leberfluß nach Endotoxin-bedingtem Abfall wieder etwas über die im Leerversuch erzielten Werte an.

Bei Actihaemyl^R-Prophylaxe fällt er sofort nach Zuführung von Endotoxin auch nur auf Normalwerte ab.

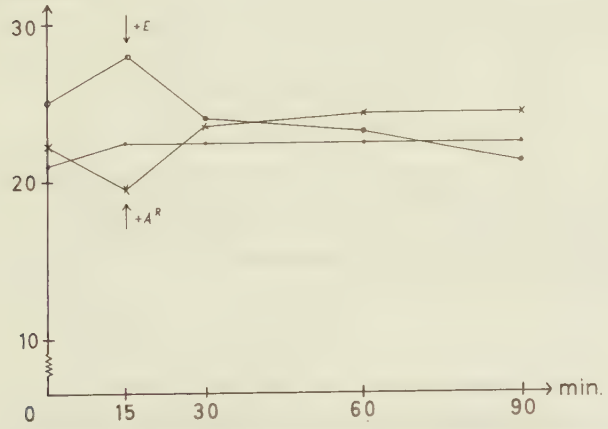


Abb. 3: Beeinflussung des Leberflusses bei Zuführung von Actihaemyl^R (15ml) vor bzw. nach Endotoxingabe (6ml). Aufgetragen sind die Mittelwerte von n = 6 Versuchen.

• = Leerversuch; x = Endotoxin + Actihaemyl^R;
• = Actihaemyl^R + Endotoxin

III. Gallefluß (vgl. Abb. 4!)

Auch hier ergab sich ein dosisabhängiger Abfall bzw. Anstieg bei Gabe von Endotoxin bzw. Actihaemyl^{R}.
Die Therapie der endotoxingeschädigten Leber mit Actihaemyl^{R} läßt den Gallefluß innerhalb von 15 Minuten steil ansteigen. Er fällt danach allmählich wieder auf Normalwerte ab.
Bei Actihaemyl^{R}-Vorgabe steigt entsprechend den Vorversuchen der Gallefluß an, um sofort nach Zufügen von Endotoxin abzufallen (jedoch schwächer als in den Vorversuchen).

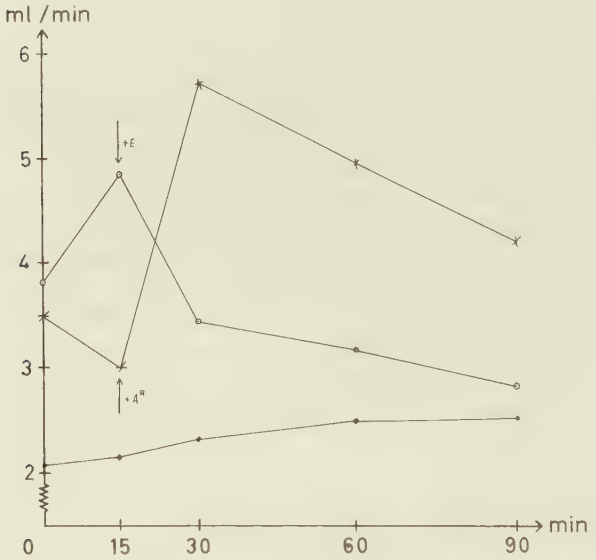


Abb. 4: Beeinflussung des Galleflusses bei Zuführung von Actihaemyl^{R} (15 ml) vor bzw. nach Endotoxingabe (6ml). Aufgetragen sind die Mittelwerte von n = 6 Versuchen.

• = Leerversuch; x = Endotoxin + Actihaemyl^{R};
• = Actihaemyl^{R} + Endotoxin

IV. pO_2 (vgl. Abb. 5!)

Bei der therapeutischen Anwendung von Actihaemyl^{R} zeigt sich ein kurzzeitiges (15 Minuten lang) Überwiegen der Endotoxinwirkung (Erniedrigung des O_2-Verbrauches über die Gabe von Actihaemyl^{R} hinaus). Dann jedoch steigt während der Versuchsdauer von 90 Minuten die O_2-Aufnahme ständig an.

In der zweiten Versuchsserie senkt das Endotoxin trotz prophylaktischer Gabe von Actihaemyl^{R} den O_2-Verbrauch, allerdings in geringerem Maße als bei seiner alleinigen Zuführung.

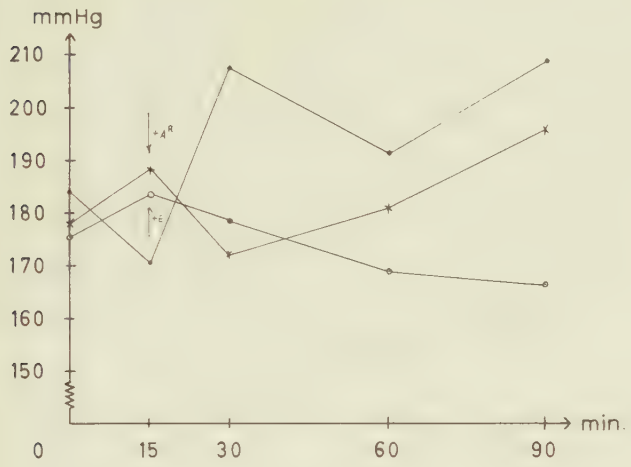


Abb. 5: Beeinflussung der pO_2 im Perfusat bei Zuführung von Actihaemyl^{R} (15ml) vor bzw. nach Endotoxingabe (6ml). Aufgetragen sind die Mittelwerte von n = 6 Versuchen.

• = Leerversuch; x = Endotoxin + Actihaemyl^{R};
•= Actihaemyl^{R} + Endotoxin

V. pCO_2

Hier war die Empfindlichkeit der Meßmethoden zu gering, so daß aus den Ergebnissen keine Tendenzen abzulesen waren.

VI. Glucosekonzentration (vgl. Abb. 6!)

Die Glucosefreisetzung steigt dosisabhängig bei der Anwendung von Actihaemyl^{R}; bei Endotoxingabe zeigt sie einen Abfall.
Die entsprechend den Vorversuchen hohe Glucosekonzentration bei prophylaktischer Gabe von Actihaemyl^{R} fällt unter Endotoxin ab, jedoch nur bis auf den Normalwert.

Nach therapeutischer Verabreichung der Substanz steigt die Glucose kurzzeitig (15 Minuten) steil an, um dann wieder auf Normalwerte abzufallen.

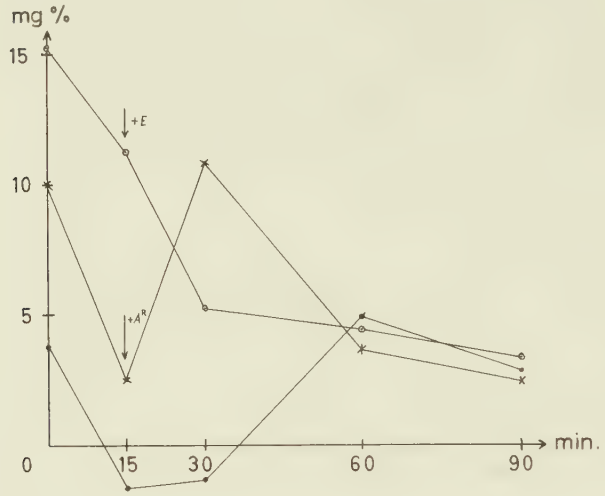


Abb. 6: Beeinflussung des Glucosegehaltes bei Zuführung von Actihaemyl^{R} (15ml) vor bzw. nach Endotoxingabe (6ml). Aufgetragen sind die Mittelwerte von n = 6 Versuchen.

• = Leerversuch; x = Endotoxin + Actihaemyl^{R};
• = Actihaemyl^{R} + Endotoxin

VII. Lactat- und Pyruvatkonzentration (vgl. Abb. 7 und 8!)

Actihaemyl^{R} bewirkt einen dosisabhängigen Anstieg beider Konzentrationen, wobei Pyruvat etwas stärker steigt als Lactat. Nach Endotoxinzuführung zeigt sich wiederum ein dosisabhängiger Abfall.

Bei prophylaktischer Zugabe von Actihaemyl^{R} werden von Anfang an erhöhte Lactat- und Pyruvatwerte festgestellt. Beide Konzentrationen fallen nach Endotoxingabe erst steil, dann gemäßigter ab, um sich nach etwa 45 Minuten auf ein Plateau einzupegeln, das niedriger liegt als die Normalwerte.

Unter Actihaemyl^{R}-Therapie vermag das Absinken der Pyruvatkonzentration nur für etwa 15 Minuten aufgehalten werden, die Lactatkonzentration versucht sich nach einem durch das Endotoxin bewirkten Abfall wieder auf Normalwerte einzustellen.

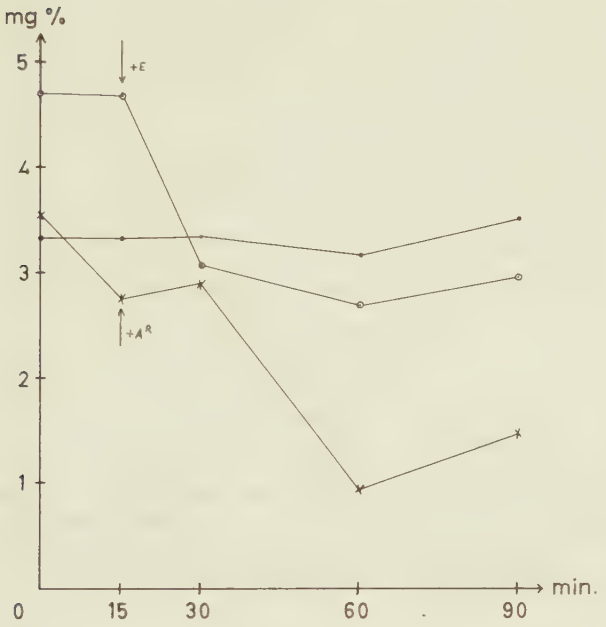


Abb. 7: Beeinflussung der Lactatkonzentration bei Zuführung von Actihaemyl^{R} (15ml) vor bzw. nach Endotoxingabe (6ml). Aufgetragen sind die Mittelwerte von n = 6 Versuchen.

•= Leerversuch; x = Endotoxin + Actihaemyl^{R};
o= Actihaemyl^{R} + Endotoxin

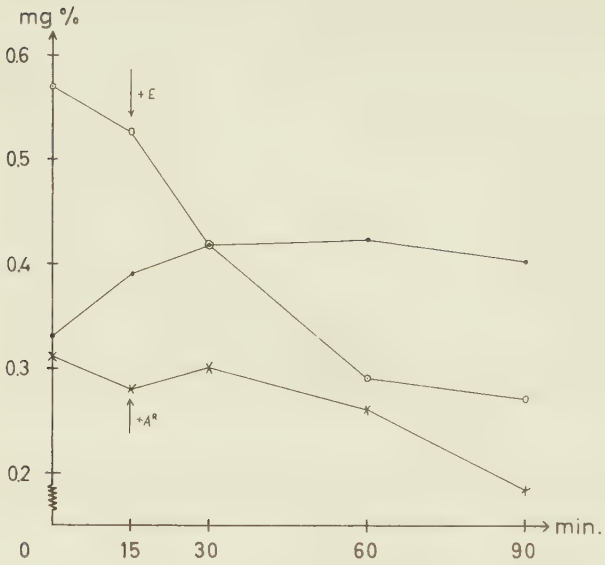


Abb. 8: Beeinflussung der Pyruvatkonzentration bei Zuführung von Actihaemyl^{R} (15ml) vor bzw. nach Endotoxingabe (6ml). Aufgetragen sind die Mittelwerte von n = 6 Versuchen.

• = Leerversuch; x = Endotoxin + Actihaemyl^{R};
◦ = Actihaemyl^{R} + Endotoxin

VIII. Lactat-Pyruvat-Quotient (vgl. Abb. 9!)

Er verbleibt unter Actihaemyl^{R} im physiologischen Bereich um 10; unter Endotoxin zeigt er eine dosisabhängige Steigerung.
Die prophylaktische Zuführung von Actihaemyl^{R} kann ihn nach anfänglichem Abfall bei Endotoxingabe in den Normbereich zurückholen. Die Actihaemyl^{R}-Therapie senkt den Quotienten auf die Norm.

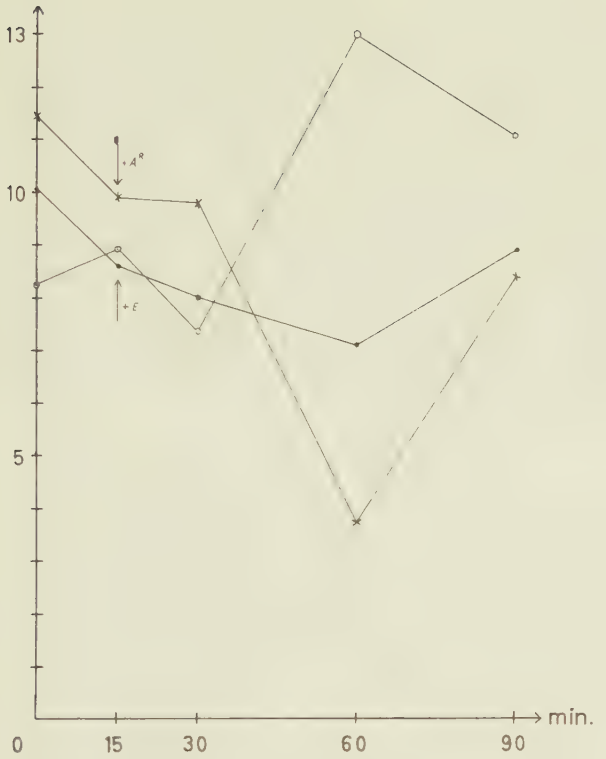


Abb. 9: Beeinflussung des Lactat-Pyruvat-Quotienten bei Zuführung von Actihaemyl^{R} (15ml) vor bzw. nach Endotoxingabe (6ml). Aufgetragen sind die Mittelwerte von n = 6 Versuchen.

• = Leerversuch; x = Endotoxin + Actihaemyl^{R};
o = Actihaemyl^{R} + Endotoxin

DISKUSSION

I. Allgemeines

Bevor die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen diskutiert werden, soll kurz die Energiegewinnung in biologischen Systemen zur Darstellung kommen, um die Wirkung des Endotoxins und des prophylaktisch sowie therapeutisch angewandten Actihaemyl^{R} besser erläutern zu können. Die Gewinnung von chemischer, mechanischer, elektrischer oder Wärmeenergie erfolgt im höheren Organismus vorzugsweise durch eine stufenweise Oxidation der Substrate des Zellstoffwechsels, bei der schließlich eine Übertragung von Elektronen auf molekularen Sauerstoff erfolgt (Biologische Oxidation, Citratcyklus). Jedoch auch ohne Mitwirkung von Sauerstoff ist eine Energiegewinnung möglich wie z. B. bei der Glykolyse.

1. Citratcyklus

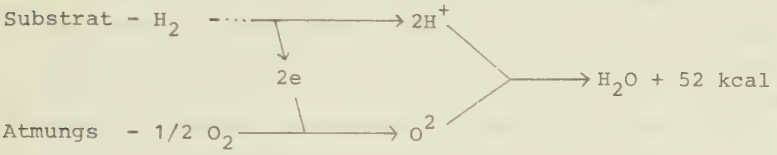
Bei ausreichender Sauerstoffversorgung führt der glykolytische Abbau der Glucose nicht zum Lactat (Milchsäure), sondern nur bis zum Pyruvat (Brenztraubensäure). Aber auch das bei der anaeroben Glykolyse gebildete Lactat kann unter aeroben Bedingungen - vor allem von Leber und Herzmuskel - durch die Lactat-Dehydrogenase wieder zu Pyruvat oxidiert werden, wenn die Pyruvat- und $NADH_2$-Konzentration des Gewebes gering ist.
In einer für alle Lebewesen und ihren Energiestoffwechsel grundlegenden Reaktionsfolge wird das Pyruvat zu CO_2 oxidiert. Der Citratzyklus wird somit zum Wasserstofflieferanten für die biologische Oxidation und dadurch aufs Engste mit dem Energiestoffwechsel der Zelle verbunden. Die benötigten Enzyme sind hauptsächlich in den Mitochondrien lokalisiert. Die Gesamtreaktion verläuft als Bilanz nach folgender Gleichung:

$$\text{Acetyl-CoA} + 3\text{NAD} + \text{FAD} + \text{GDP} + \textcircled{P} + 2H_2O \longrightarrow 2CO_2 + \text{CoA} + 3NADH_2 + FADH_2 + \text{GTP}$$

2. Biologische Oxidation

Sie verläuft in der ersten Phase als Dehydrierung der Substrate, und der dabei freigesetzte Wasserstoff bzw. seine Elektronen werden zunächst von einer Serie hintereinander geschalteter Enzym-

systeme übertragen. Erst in der Endphase kommt es zur Oxidation unter Beteiligung des Atmungssauèrstoffes, der schließlich die Elektronen des Wasserstoffes aufnimmt. Die bei dieser Reaktion erfolgte Bildung von Wasser ist mit einer Gewinnung von Energie verbunden:



Auch diese als Atmungskette bezeichnete Reaktionsreihe ist in den Mitochondrien lokalisiert.

3. Anaerobe Glykolyse und Gluconeogenese

Der anaerobe Abbau der Glucose über Pyruvat zum Lactat (z.B. im Muskel) wird Glykolyse genannt. Die Enzyme dieser Reaktionskette sind nicht an zelluläre Strukturen gebunden.
Es gibt zwar einige wenige Gewebe (z.B. Erythrozyten, Knorpelgewebe), bei denen die Glykolyse die bevorzugte Quelle der Energiegewinnung darstellt. Sie ist jedoch Voraussetzung für den nachfolgenden oxidativen Endabbau der Kohlenhydrate im Citratzyklus (siehe unter I. 1.!).
Der Stoffwechselweg des glykolytischen Abbaus der Glucose bis zum Pyruvat ist reversibel und wird als Gluconeogenese bezeichnet.

Die Lactatbildung findet vor allem in der Muskulatur bei intensiver mechanischer Arbeit statt, wenn der angebotene Sauerstoff nicht zur Oxidation des Pyruvats ausreicht. Das Lactat wird an das Blut abgegeben, da es der Muskel nicht verwerten kann, und zum größten Teil von der Leber aufgenommen. Hier wird es entweder zu CO_2 und H_2O oxidiert oder zu Glykogen resynthetisiert. Das Leberglykogen kann mobilisiert und als freie Blutglucose wieder der Muskulatur zur Verfügung gestellt werden.
Zur vorübergehenden anaeroben Glykolyse sind - vor allem bei Sauerstoffmangel - die meisten Zellen befähigt.

II. Leberdurchfluß und Gallefluß

Da nach Angaben des Herstellers Actihaemyl^{R} kein Vasodilatator ist, muß der nach Gabe des Eiweißkonzentrats erhöhte Leberdurchfluß und Gallefluß auf andere Weise zu erklären sein. Actihaemyl^{R} steigert den aeroben Stoffwechsel, in dem es eine bessere Ausnutzung des angebotenen Sauerstoffes und der Substrate gewährleistet. Dabei fällt vermehrt CO_2 an (Citratcyklus), es kommt zu einer Vasodilatation. Außerdem führt die Substanz zu einer primären Verminderung des Gefäßwiderstandes.
D.h. also, der vermehrte Leberdurchfluß und der erhöhte Gallefluß sind durch eine Gefäßerweiterung bedingt, die als sekundär vom Zellstoffwechsel ausgehender Effekt imponiert und nicht durch einen direkten Angriff des Actihaemyl^{R} an der Gefäßmuskulatur zu erklären ist. Der Mechanismus, der bei Zuführung von Endotoxin zur Drosselung des Leberflusses führt, ist unbekannt. Es werden ein direkter Angriff am Gefäß diskutiert, eine Schwellung der Kupfferzellen und der Mikrovilli in den Leberzellen oder eine Ablagerung von Fibrin in den Gefäßen. Auf jeden Fall hängt sie nicht mit extrahepatischen Faktoren zusammen wie z.B. vermindertem HMV oder erniedrigtem Plasmavolumen.
Der Gallefluß ist weitgehend unabhängig von der Größe des Leberdurchflusses. Seine Verminderung scheint zurückzuführen zu sein auf eine Schädigung der Gallengangsepithelien durch das Endotoxin. Bei der Prophylaxe mit Actihaemyl^{R} steigt der Durchfluß entsprechend den obengenannten Mechanismen an, und die Substanz kann ihre Schutzwirkung in der Weise geltend machen, daß er nach Zuführung von Endotoxin zwar abfällt, jedoch nur bis in Höhe der in den Leerversuchen erzielten Werte. In gleicher Weise steigt sofort nach therapeutischer Gabe von Actihaemyl^{R} die Flußrate an.
Bei beiden Versuchsreihen fiel auf, daß die Änderung des Leber- und Galleflusses in den ersten 15 Minuten nach Zuführung von Actihaemyl^{R} bzw. Endotoxin am größten ist und sich danach auf ein Plateau in der Nähe der Leerwerte einpegelt.

III. pO_2

Actihaemyl^{R} erhöht die Aktivität der Succinatdehydrogenase (Enzym

des Citratzyklus) und der Cytochromoxidase (Enzym der biologischen Oxidation), die im O_2-Stoffwechsel eine entscheidende Rolle spielen. Außerdem führt es zu einer gesteigerten Phosphorylierung in der Atmungskette. Die bei der biologischen Oxitation entstehende Energie wird nicht vollständig als Wärme frei, sondern zum Teil für die gleichzeitige Synthese von ATP aus ADP und anorganischem Phosphat verwendet. Da die ATP-Synthese nach der Reaktion ADP + P $\longrightarrow$ ATP unter Ausnutzung der in der Atmungskette freiwerdenden Energie verläuft, wird diese Art der ATP-Synthese als Atmungskettenphosphorylierung bezeichnet. Und diesen Prozeß verstärkt also Actihaemyl^R durch eine echte katalytische Wirkung (der Effekt der erhöhten O_2-Aufnahme konnte nämlich auch an substratgesättigten Mitochondrien festgestellt werden).
Endotoxin dagegen führt zu einer Erniedrigung des O_2-Verbrauchs. Man nimmt an, daß dies durch Aktivierung lysosomaler Enzyme geschieht, die die Mitochondrien schädigen, so daß diese für die bei der biologischen Atmung und im Citratcyklus ablaufenden Vorgänge nicht mehr voll funktionstüchtig zur Verfügung stehen.
Trotz prophylaktischer Gabe von Actihaemyl^R sinkt der O_2-Verbrauch bei Endotoxinzuführung kontinuierlich, allerdings nicht in dem Maße wie bei alleiniger Endotoxingabe. D.h. also, daß die schützende Wirkung des Actihaemyl^R durch Aktivierung der Zellatmung vorhanden ist, jedoch nicht voll zum Tragen kommen kann.
Bei der Therapie mit Actihaemyl^R aber läßt sich sogar das kurzzeitige Überwiegen der Endotoxinwirkung auffangen und die Zellatmung so weit wieder herstellen, daß die O_2-Aufnahme während der Versuchsdauer ständig steigt.

IV. Glucose

Die Glucosekonzentration im Blut bzw. im Perfusat sinkt bei Actihaemylgabe ständig ab, da durch eine erhöhte Zellpermeabilität die Aufnahme der Glucose in die Zelle gesteigert wird. Auch die Glucoseoxidation steigt nach Zuführung von Actihaemyl^R (siehe auch unter III.!)
Das Endotoxin bewirkt eine initiale Hyperglykämie, da es die Glykogenspeicher der Leber entleert. Bei fortgesetzter Exposition erfolgt dann ein Absinken der Glucosekonzentration, weil die Glu-

coneogenese aus Glucosevorläufern durch das Endotoxin gehemmt ist. Die durch die Prophylaxe mit Actihaemyl^{R} bewirkte Senkung der Glucosekonzentration wird durch Endotoxingabe weiter verstärkt, ohne daß die sonst zu beobachtende initiale Hyperglykämie nach Endotoxin auftritt. Hier also zeigt sich die aktivierende Wirkung des Actihaemyl^{R} und wiederum in der ersten Viertelstunde nach Zuführung von Endotoxin am stärksten.
In der Versuchsreihe der Actihaemyl^{R}-Therapie konnte keine anfängliche Erhöhung der Glucosekonzentration nach Endotoxingabe beobachtet werden. Dafür stieg sie kurzzeitig bei Zuführung des Eiweißkonzentrates an, um dann während der Versuchsdauer wieder auf Normalwerte abzufallen. Dieses Phänomen läßt sich eventuell mit einer verspätet einsetzenden Reaktion auf Endotoxin erklären, die dann aber durch das Actihaemyl^{R} abgeblockt wird.

V. Lactat-Pyruvat-Konzentration und -Quotient

Ein erhöhter O_2-Verbrauch ist Ausdruck einer gesteigerten Zellaktivität wie sie das Actihaemyl^{R} bewirkt und die u.a. in erhöhten Lactat- und Pyruvatwerten ihren Ausdruck findet. Der Quotient aus beiden Werten bleibt dabei im physiologischen Bereich um 10. Endotoxin als Membrangift stört die Vorgänge im Citratzyklus und in der Atmungskette, so daß es zu einem Abfall sowohl des Lactats als auch des Pyruvats kommt, wobei Letzteres stärker betroffen ist. Demzufolge steigt der Quotient stark an. Die Endotoxingabe nach prophylaktischer Anwendung von Actihaemyl^{R} läßt die Konzentration von Milch- und Brenztraubensäure zuerst steil abfallen (die schädigende Endotoxinwirkung überwiegt also), dann jedoch kann sie Actihaemyl^{R} durch seine positive Wirkung auf die oxidativen Vorgänge auf ein Plateau etwas unterhalb der Normwerte einstellen. Diese seine Wirkung zeigt das Eiweißkonzentrat auch bei therapeutischer Gabe, allerdings erst nach einer Latenzzeit von etwa 45 Minuten.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung des Zellstoffwechsel-Aktivators Actihaemyl^{R} auf die isoliert perfundierte Rattenleber geprüft. Zu diesem Zweck wurden zwei Versuchsreihen angelegt. In der ersten fügte man die Substanz dem Perfusat vor, in der zweiten nach Gabe von Endotoxin zu.

1. Actihaemyl^{R} bewirkt durch Steigerung des aeroben Stoffwechsels eine sekundäre Gefäßdilatation, d.h. also eine Erhöhung des Leberflusses und des Galleflusses.

2. Die Therapie mit Actihaemyl^{R} stoppt die durch Endotoxin in Gang gesetzte Senkung des O_2-Verbrauchs bzw. bei prophylaktischer Gabe fällt der O_2-Verbrauch langsamer ab als bei alleiniger Endotoxingabe.

3. Infolge erhöhter Zellpermeabilität unter Actihaemyl^{R} wird die Glucoseaufnahme in die Zelle erhöht; dadurch sinkt die Konzentration im Perfusat ständig.

4. Durch seine die oxidativen Vorgänge in der Zelle anregende Wirkung hebt Actihaemyl^{R} die durch Endotoxin abgefallenen Lactat- und Pyruvatkonzentrationen wieder bis fast auf Normwerte an.

Aufgrund der vorliegenden Befunde kann gesagt werden, daß das Actihaemyl^{R} den Zellstoffwechsel und die Energiebildung der Leberzelle aktiviert.

LITERATURVERZEICHNIS

BRAUER, R.W. (R.L. Ressothi; Pizzolato): Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 78, 174

BREUER, H. (M.Schönfelder; H.W. Schreiber): Klin.Wschr. 39, 1189 (1961)

DJURIC, D. (J.Micic; D. Manojlovic): Galenica, Documenta, 467 (1975)

FILKINS, J.P. (R.P.Cornell): Depression of hepatic gluconeogenesis and the hypoglycemia of endotoxin shock. Am.J.Physiol. 227 (4), 778 - 81 (Oct.1974)

FÜNFGELD, E.W.: Nervenarzt 41, 352 (1970)

GAEBEL, E. (O. Paul): Münch.med.Wschr. 103, 1377 (1961)

GEYER, O.Ch.: Augenspiegel 17, Nr. 10 (1971)

GIGER, O. (R.E.McCallum): Response of mouse liver glycogen cycle enzymes to endotoxin treatment. Am.J.Physiol. 231 (4), 1285 - 9 (Oct.1976)

HARKEN, A.H. (R.S.Lillo; H.V. Hufnagel): Direkt influence of endotoxin on culluar respiration. Surg.Gynecol.Obstet. 140 (6), 858 - 60 (Jun.1975)

HEMS, R.(B.D.Ross;M.N.Berry; H.A. Krebs): Gluconeogenesis in the perfused rat liver. Biochem.J. 101, 284 - 296 (1966)

HOEFER-JANKER, H. (W.Scheef; J. Dockter): Strahlentherapie 139, 701 (1970)

HOHORST, H.J. in: Methoden der enzymatischen Analyse. Hrsg.: H.U. Bergmeyer, Verlag Chemie, Weinheim (1962)

HOLTZMAN S. (S.C.Balderman): Comperison of lactate and pyruvate during endotoxin shock. Surg.Gynecol.Obstet. 145 (5), 677 - 81 (Nov. 1977)

KERN, H. (L.Obrowsky): Österr.Mh.ärztl.Fortbild. 6, Nr. 11 (1965)

KIRCHHOFF, H.W.(K.v.Maillot; V.W.Rahlfs; H. Reichel): Int.J.Chin. Pharmacol. 6, 375 (1972)

KREBS, H.A.: in "Stoffwechsel der isoliert perfundierten Leber", Hrgs. W. Staib + R. Scholz Springer Verlag, Berlin 1968

KUBOWITZ, F. (P.Ott): Isolierung und Kristallisation eines Gärungsfermentes aus Tumoren. Biochem.Z. 314, 94 - 117 (1943)

LANNER, G. (G.Argyropoulos): Wien.med.Wschr. 125, 681 (1975)

MENNA, F.: Arch. Oftal. 68, Nr. 11/12 (1964)

MESSMER K. (K. Wanner; H.J. Reulen; K. Nordmann): Initiale Durchblutungsreaktionen abdomineller Organe im Endotoxinschock Med. Klinik 61 (22), 899 (Jun.1966)

MEYTHALER, F. (O.Ell; S. Derlath): Münch. med. Wschr. 105, 1945 (1963)

MILLER, L.L.: Technique of isolatet perfused rat liver perfusion. J.l.p. and its applications, 11 - 52 (1973), Raven Press N.Y.

MILLER, L.L. (C.G.Bly; M.L.Watson; W.F.Bale): The dominant role of the liver in plasme protein synthesis. (J.Exp.Med. 94, 431 - 453 (1951)

MONNARD, P.: Praxis 63, 909 (1974)

RANGEL, D.M. (A.Dinbar; G.H.Stevens; R.Cooper; E.W.Fonkalsrud): The hepatic response to endotoxin shock.

REICHEL, H. (Chr.Weiss; H.P. Leichtweiss): Arzneimittel-Forsch. 15, 756 (1965)

REIKOWSKI, J. (D. Müting) Wien.med.Wschr. 125, 716 (1975)

RÖLL, W.: Chirurg 34, 247 (1963)

RÜGHEIMER, E.: Praxis der Schockbehandlung, Thieme, Stgt. (1971)

SCHIMASSEK, H.: Der Einfluß der Leber auf den extrazellulären Redaxquotienten LAC/PYR Biochem.Z. 336, 468 - 473 (1963)

SCHMIDT, F.H. Klin.Wschr. 39, 1244 (1961)

SCHNELLEN, B.: Med. Welt 19, 198 (1968)

SCHWABE, H.K.: Arzneimittel-Forsch. 16, 364 (1966)

STERN, P. (K. Valjevac): Atli.Accad.med.lonebarda XXV, Nr. 1 (1970)

TROWEILL, O.A.: Urea Formation in the isolated perfused liver of the rat. J. Physiol. 100, 432 (1942).

UTILI R., (C.O.Abernathy; H.J.Zimmerman): Effects of Salmonella enteritidis endotoxin on the excretory function of the isolated perfused rat liver. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 155 (2), 184 - 8 (Jun.1977)

UTILI R., (C.O.Abernathy; H.J.Zimmerman): Studies on the effects of E.coli endotoxin on canalicular lile formation in the isolated perfused rat liver. J.Lab.Clin.Med. 89 (3), 471 - 82 (Mar. 1977)

v. ALBERT, H.-H.: Österr.Mh.ärztl.Fortbild.Sonderheft: Probleme der O_2 Utilisation (1964)

v. ALBERT, H.-H. (B.Mackert): Dtsch.med.Wschr. 95, 2119 (1970)

v. ALBERT, h.-H. (B.Mackert): Med. Welt 26, 2207 (1975)

WAGENKNECHT, L.V.: Urologe B 16, 64 (1976)

WISKEMANN, A.: Schattauer, Stgt., 103 (1967)

ZIMMERMAN, H.J.: Endotoxin effects on the liver. Life Sci. 20 (169), 553 - 68 (Febr. 1977)

ZWADYK, P.JR, (J.S.Suyder): Effects of endotoxin on hepatic glycogen metabolism in vitro. Proc.Soc.Esp.Biol.Med. 142 (1), 2ii - 302 (Jan. 1973)

Herrn Prof. Dr. Hockerts danke ich für die Überlassung des Themas und die in seiner Abteilung gebotene Arbeitsmöglichkeit.

Bei Herrn Dr. Urban und den Damen des experimentell-chirurgischen Labors möchte ich mich für die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente bedanken.

Auch Frau Müller, Frau Egger und Herrn Schneider gilt mein Dank für ihre freundliche Hilfe.

L e b e n s l a u f

Am 8. September 1952 wurde ich, Erdmuthe Hummel, als Tochter des Fabrikdirektors Dr. Robert Hummel und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Köppel, in Stuttgart geboren.

1959 - 63	Besuch der Volksschule in Ochsenfurt und Zeil;
1963 - 72	Besuch des Mozartgymnasiums in Würzburg, wo ich am 23.6.1972 die Reifeprüfung ablegte;
WS 1972/73	Aufnahme des Medizinstudiums an der Universität Würzburg;
August 1974	Ärztliche Vorprüfung;
August 1975	1. Teil der Ärztlichen Prüfung;
März 1978	2. Teil der Ärztlichen Prüfung;
April 1978 - März 1979	Praktisches Jahr auf der inneren bzw. chirurgischen Abteilung des Landkrankenhauses Coburg und auf der Anaesthesieabteilung der Universitätsklinik Würzburg;
19. April 1979 schriftlicher 16. Mai 1979 mündlicher	Teil des 3. Abschnittes der Ärztlichen Prüfung;
21. Mai 1979	Approbation als Arzt.